Arnaldoa 18(2): 159 - 166, 2011 ISSN: 1815 - 8242

Capacidad bioacumuladora de *Helianthus annuus* L. "girasol" sometidas a diferentes concentraciones de plomo

Bioaccumulative capacity of Helianthus annuus L. "sunflower" subjected to different concentrations of lead

Liz García Zare, Glauco Valdivieso Arenas, Lenin Pablo Ramirez, Jonatan García Zare & Julio Chico Ruíz
Facultad Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo Ciudad Universitaria, Av. Juan Pablo II s/n. PERÚ. *liz_garciaz@hotmail.com*

Resumen

Ciertas especies vegetales tienen capacidad para absorber, acumular y/o tolerar altas concentraciones de contaminantes como metales pesados, una de ellas es *Helianthus annuus* L. (Asteraceae) a quien se sometió a diferentes concentraciones de plomo y se evaluó su capacidad remediadora y bioacumuladora, utilizando tratamientos de 0, 500 y 1000 ppm de Pb, con tres repeticiones. Las semillas fueron sembradas y cultivadas en macetas con suelo de textura arenosa, en donde se aplicó los tratamientos en forma de solución de nitrato de plomo y fertilizantes, bajo condiciones de invernadero. Los resultados muestran que las plantas sometidas a 1000 ppm de Pb acumularon mayor cantidad de plomo, almacenándose la mayor parte en la raíz y en menor cantidad en tallo y hojas; sin embargo, a nivel de clorofilas, peso fresco, peso seco, longitud de raíz y longitud de tallo, presentó valores menores con respecto a los tratamientos de 0 y 500 ppm de Pb, por lo que nos permité concluir que *H. annuus* L. es una planta bioacumuladora, donde la raíz es el órgano con mayor capacidad de bioacumulación y, que el crecimiento se ve afectado a concentraciones mayores a 1000 ppm de plomo.

Palabras clave: Bioacumulación, *Helianthus annuus* L., plomo

Abstract

Certain vegetal species have the capacity to absorb, accumulate and tolerate high concentrations of contaminants as heavy metals, one of them is *Helianthus annuus* L. (Asteraceae) It was exposed to different lead concentrations for them evaluate its remedial and bioaccumulate capacity. There were three treatments 0 ppm Pb, 500 ppm Pb and 1000 ppm Pb, with three replicates. Seed of H. annuus L. were cultivated in pots in a sand solid where the treatments were applied solution of lead nitrate and fertilizers under greenhouse conditions. The results show that plants exposed to 1000 ppm Pb were the best lead accumulate, the most part of its went to the root and lesser extent in stems and leaves, however the level of chlorophyll, fresh weight, dry weight, root length and stem length, presented lower values respect to treatments with 0 and 500 ppm Pb. It is suggested that *H. annuus* L. is a bioaccumulate plant where the root have greater potential for bioaccumulation and high concentrations of lead affected growth in the plant.

Key words:Bioaccumulation, *Helianthus annuus* L., lead

Introducción

Uno de los problemas más señalados por la sociedad a nivel mundial y que ocupa un lugar importante en los programas sociales y políticos, es la progresiva degradación de los recursos naturales causada por los diferentes contaminantes tóxicos orgánicos e inorgánicos presentes en la atmósfera, agua, suelo y subsuelo, procedentes de diversas actividades naturales y antropogénicas, generando un irremediable deterioro en el ambiente. Un recurso natural muy afectado es el suelo, que se puede degradar por sustancias nocivas que se almacenan e incluso influyen negativamente en su comportamiento, como es, la disminución del rendimiento de los cultivos, con posibles cambios en la composición de sus tejidos con riesgo para la salud de los consumidores al ingresar determinados contaminantes a la cadena trófica (Porta, 1994; Pineda, 2004).

En las últimas décadas, el acelerado desarrollo industrial y crecimiento de la población ha generado serios problemas de contaminación por metales pesados,

provocando un incremento de su concentración en el ambiente y su migración a suelos no contaminados, que deterioran la calidad del suelo, del aire y del agua (Pineda, 2004), pudiendo seguir cuatro diferentes vías: quedar retenidos en el suelo, ya sea en la solución del suelo o bien fijados por procesos de adsorción, complejación y precipitación; también pueden ser absorbidos por las plantas y luego incorporarse a la cadena trófica; pueden además, pasar a la atmósfera por volatilización, y, finalmente, pueden movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas (Roane & Perpper, 1996; Kachenko, 2007).

Los metales pesados como el Cu, Pb, Zn, Ni, Se, As, Cd, Hg, son considerados tóxicos para la mayor parte de organismos vivos, afectando el medio ambiente y la salud humana (Leland *et. al.*, 1999; Rigosa *et. al.*, 2004) el plomo (Pb), es uno de los mayores contaminantes del ambiente y altamente tóxico para el hombre (García, 2000; Gastañadui, 2003) la presencia de éste metal en el ambiente se debe principalmente a actividades como la industria, minería, fundición, uso de gasolinas, pinturas, etc y puede permanecer como residuo por 1000 a 3000 años sin ser degradado (Chaney & Ryan, 1994; Rodriguez & Rodríguez-Absi, 2006).

La preocupación, por la contaminación ambiental, ha motivado que los científicos encuentren alternativas que disminuyan o atenúen los niveles de concentración de los elementos más tóxicos; así tenemos, que la Agencia de Protección del Ambiente (EPA) establece, que si un suelo supera el límite máximo permitidos fijados en 300 a 500 mg de Pb kg-1 debe ser remediado (EPA, 1996). Por lo que, desde el punto de vista biológico, se han planteado posibles soluciones a la contaminación del ambiente, como es el caso, de la fitorremediación y la remediación bacteriana (Flores & Cortes, 2006).

La fitorremediación, es la captación de metales contaminantes por las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas; por lo que, se han utilizado muchas plantas para extraer los metales de suelo, de agua y de sedimentos, incluyendo el retiro de elementos radiactivos, y la mineralización posible de los compuestos orgánicos tóxicos (Tsao, 2003); usando diversas técnicas como es el caso de la fitodegradación, fitovolatilización, rizodegradación, fitoestabilización, rizofiltración y fitoextracción (Rigosa *et. al.*, 2004; Bailón, 2006).

El éxito de la fitorremediación, depende de identificar las especies vegetales que toleren el estrés, que acumulen los metales pesados y produzcan cantidades grandes de biomasa. En general, las plantas que acumulan más de 1000 mg/kg del Pb, se llaman los hiperacumuladoras y nos sirve como ejemplo *Thlaspi rotundifolium*, que puede acumular hasta 8.200 mg/kg; sin embargo, esta especie no es satisfactoria para la fitorremediación de Pb en los suelos contaminados debido a su tasa de crecimiento lenta y poca producción de biomasa (Hong-Yun *et. al.*, 2005).

Se reportan, que algunas especies pertenecientes a las Asteraceas, toleran altos niveles de metales pesados en comparación con otros grupos taxonómicos, y, se les ha propuesto como especies fitorremediadoras; entre las que destaca *Ageratum conyzoides*, *Sonchus oleraceus* como bioacumuladoras de plomo en sus tejidos (Xiong 1997; Davies *et. al.*, 2001); Asimismo, *Helianthus annuus* L. tiene capacidad para acumular metales y responder con alta biomasa radicular (Agroenfoque, 2007), no obstante, presenta baja tolerancia al cromo comparado con otras plantas acumuladoras (Shahandeh, 2000; Pena *et. al.*, 2006); además, tiene la capacidad de acumular altas concentraciones de uranio y cadmio en sus tejidos (tallo y raíz) con una razonable tolerancia (Simone *et. al.*, 2006); es por esta razón, es empleada en los procesos de fitorremediación acumulando y reciclando dichos metales excesivos en los suelos para promover la limpieza de suelos contaminados (Lin *et. al.*, 2003).

Dado que el plomo es frecuente encontrarlo en suelos contaminados, se propuso conocer la capacidad bioacumuladora de los órganos de *Helianthus annuus* L. "girasol" cuando son sometidos a diferentes concentraciones de plomo y evaluar su posible efecto en el crecimiento.

Material y métodos

Material biológico

Las semillas de *Helianthus annuus* L. "girasol" fueron colectadas de diferentes plantas, en la localidad

de Virú, Provincia de Virú, región La Libertad (durante los meses de Marzo-Abril, 2008).

Obtención de plántulas y condiciones de crecimiento. Desinfección de semillas. Las semillas de *H. annuus* L. fueron desinfectadas por inmersión en alcohol al 70% por un minuto, luego hipoclorito de sodio al 2.5% por cinco minutos y enjuagadas con agua destilada varias veces.

Germinación. El sustrato empleado para la germinación fue "arena fina de río", la que fue esterilizada para evitar el contagio por hongos y distribuidas en 200 vasos plásticos, en donde se colocaron 2 semillas, las cuales se mantuvieron húmedas con agua destilada y en condiciones semicontroladas de invernadero hasta su germinación, después de 20 días, las plántulas que presentaron el primer par de hojas verdaderas fueron utilizadas para trasplante (Pineda, 2004).

Trasplante. Se seleccionaron plántulas con características semejantes en tamaño, color, diámetro del tallo y número de hojas, se sembraron en macetas con 1.5 kg de capacidad, conteniendo como sustrato arena de río desinfectada y en cada maceta se colocó una plántula, con repeticiones de 10 plántulas (c/u en su respectiva maceta) por tratamiento (Fig. 1).

Tratamientos con soluciones de plomo

Las plántulas de *H. annuus* L. "girasol" con 20 días de germinación fueron sometidas a los siguientes tratamientos:

0 ppm de Pb solución…….. tratamiento 1, testigo

500 ppm de Pb solución….......tratamiento 2

1000 ppm de Pb solución…….tratamiento 3

La experiencia consistió en preparar una solución patrón de 1,5984 g. de $Pb(NO_3)$ 2 en 1 litro de agua bidestilada para obtener 1000 ppm de plomo, de donde se obtuvieron diluciones para la aplicación de los tratamientos y contaminar artificialmente el sustrato que sostenían a las plántulas, distribuyéndose 200 ml de la solución entre las 10 macetas de cada tratamiento, la aplicación se realizó en las plántulas con 20 días de edad, repitiendo la aplicación 15 días después, con la intensión de renovar el medio; concentración de 500 ppm de plomo se considera como una cantidad que rebasa las cantidades promedio en el suelo que indica una inminente contaminación, la concentración de 1000 ppm de plomo se estableció con la intensión de ejercer una presión extra en las plantas (Temmerman *et. al.*,1984; EPA, 1996).

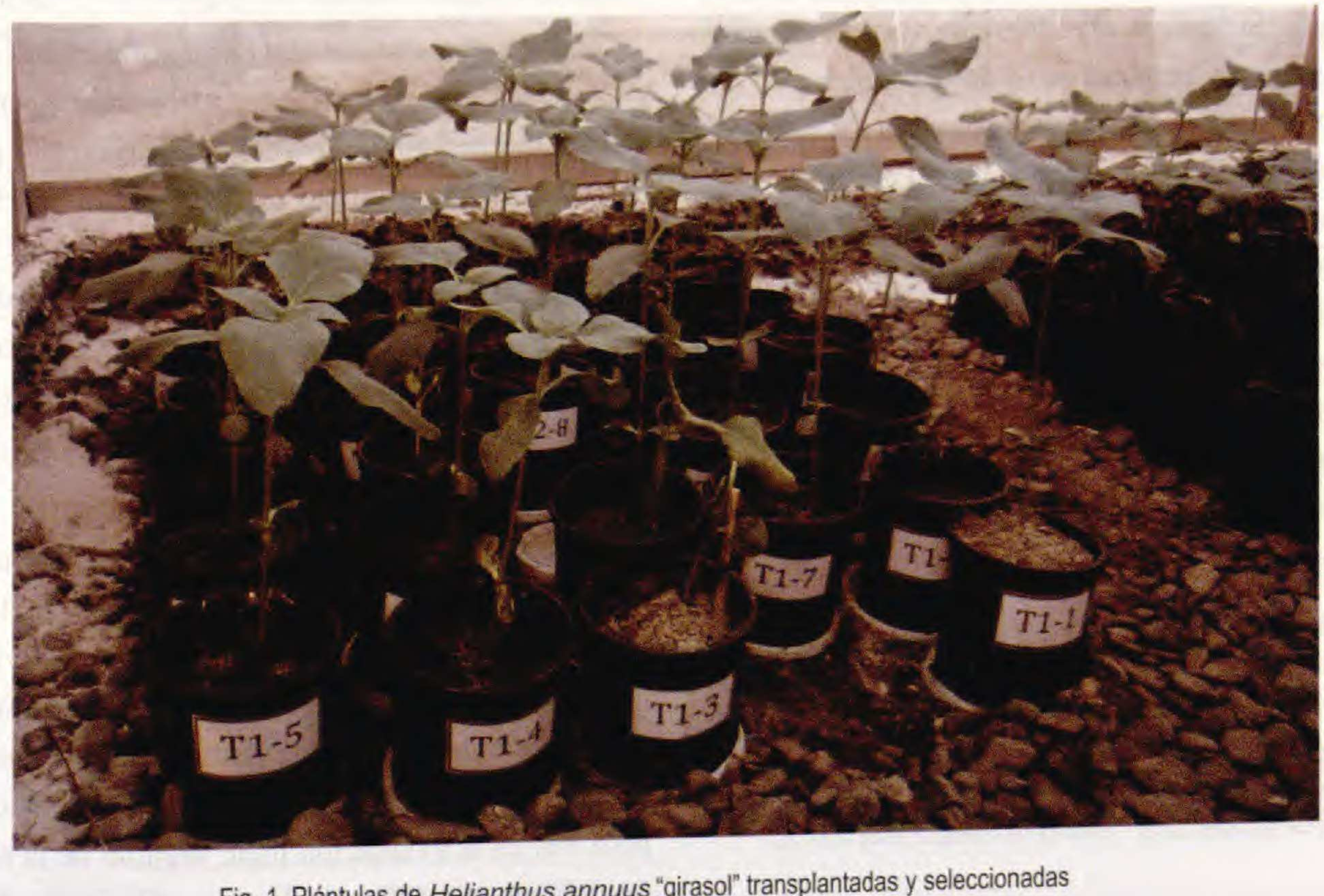


Fig. 1. Plántulas de *Helianthus annuus* "girasol" transplantadas y seleccionadas

El riego fue aplicado con soluciones nutritivas, a un pH entre 5.5 y 6.5, (Azcón-Bieto & Talón, 2001) ajustado con HCl 1N y KOH 2N, los volúmenes de riego aplicado fueron suficientes para evitar stress hídrico (Agroenfoque, 2007); así mismo, la experiencia se realizó en condiciones de invernadero a temperatura ambiente 25±2 ºC.

Duración del experimento. El tiempo recomendado para completar el estudio con plantas de *H. annuus* L. es de aproximadamente 50 días (Davies *et. al*., 2001), nuestra experiencia tuvo duración de 60 días para asegurar la confiabilidad de los datos; tomando como referencia para la evaluación a 20 días de iniciado el experimento (40 días de germinación) y 40 días de iniciado el experimento (60 días de germinación).

Análisis cuantitativos de acumulación de plomo. El espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) Perkin Elmer Analyst 300 HGA800 fue usado para cuantificar el contenido de plomo acumulado en cada uno de los órganos vegetales de las plantas de *H. annuus* L, las cuales fueron evaluadas a los 40 y 60 días de edad. De cada tratamiento se eligió 5 plantas de las cuales se separaron las raíces, tallos y hojas, se tomaron sus pesos frescos y luego fueron guardados en sobres de papel rotulado para determinar su peso seco utilizando una estufa (Simone *et. al*., 2006). Se tomó 0.1 gramos de cada muestra, vertiéndose en fiolas rotuladas de 100 ml de capacidad, se homogenizaron con 12 ml de ácido nítrico al 60% llevadas luego a digestión ácida por 45 minutos utilizando una cocina eléctrica y cuando el contenido clarificó se aforó con agua destilada hasta completar 100 ml, que fueron filtrados en papel filtro Whatman Nro. 1 y la lectura se realizó en el EAA, los valores obtenidos del EAA fueron utilizados para calcular la concentración de plomo en miligramos por kilogramo de planta, utilizando la siguiente fórmula (Bailon, 2006):

$$\text{Concentración de Pb (mg/kg o ppm)} = \frac{\text{Lectura de F (mg/L)} \times 0.10\ \text{L}}{\text{Peso seco de la muestra (g)}}$$

Donde:

Lectura de F (mg/L) = lectura de Pb en la muestra
0.10 L = Volumen total de la muestra
Peso seco de la muestra (g) = peso de la muestra seca a 80 oC

Cuantificación de clorofila a, clorofila b, clorofilas totales y carotenos. La concentración de clorofilas y carotenos se determinó en hojas elegidas al azar por cada tratamiento y evaluación. La extracción de clorofilas se obtuvo de hojas frescas (0.5 g.) utilizando 5 ml de etanol al 70% por 24 horas; el extracto fue filtrado y centrifugado a 1000 r.p.m durante 5 minutos para obtener el sobrenadante, se tomó 2 ml y se aforó hasta 10 ml con etanol al 10% (Pena *et. al*.,2006; Salgado, 2007), con esta nueva solución se midió absorbancias de 665 nm, 649 nm y 480 nm de la luz UV–VIS del espectrofotómetro Miltin Roy 21; Las concentraciones de clorofila a, clorofila b, clorofilas totales y carotenos fueron calculadas utilizando las siguientes fórmulas con factores (Mohammad & Nafees, 2006):

Clorofila total = [(6.10 x A665) + (20.4 X A649)] µg/ml
Clorofila a = [(13.70 x A665) - (5.76 x A649)] µg/ml
Clorofila b = [(25.80 x A649) - (7.60 x A665)] µg/ml
Carotenos = A480 x4 µg/ml

Donde:

A = Lectura obtenida de la absorbancia.

Análisis de crecimiento. Se tomaron medidas de longitud de raíz, tallo (ambos en centímetros), peso fresco, peso seco (ambos en gramos) y número de hojas, de todas las plantas de *H. annuus* L. correspondientes a los 3 tratamientos a los 40 y 60 días de edad (Tabla 2).

Análisis estadísticos. Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente utilizando promedio, desviación estándar, Análisis de Varianza y prueba de comparación múltiple de Tukey (PEI=0.05) para determinar las diferencias significativas de plomo bioacumulado entre los tratamientos asignados y órganos vegetales de *H. annuus* L. utilizando el programa estadístico Statgraphics Plus 5.1 (Tabla 3, Tabla 4).

Resultados

En la Tabla 1 se muestra la concentración promedio de plomo (ppm) acumulado en los órganos vegetales de *H. annuus* L. a los 40 y 60 días de edad, observándose una disminución en éstos durante el tiempo de evaluación. Destaca la raíz del tratamiento con 1000 ppm de plomo, con mayor acumulación promedio (4.96 ppm Pb) en la evaluación final, seguido de la raíz del tratamiento con 500 ppm de plomo (3.17 ppm Pb). En

la Figura 2 está graficada la concentración de clorofilas y carotenos (µg/L) en hojas de *H. annuus* L. a los 60 días de edad, se observa que el tratamiento con 1000 ppm de plomo, presenta menor cantidad de clorofila a, clorofila b, clorofilas totales, carotenos y peso seco, con respecto a los otros dos tratamientos, encontrándose una relación directa entre el contenido de clorofilas y el peso seco de la planta.

Tabla 1. Concentración promedio de plomo acumulado (ppm) en los órganos de *H. annuus* L. a los 40 y 60 días de edad, en los tres tratamientos

		TRATAMIENTOS		
Órganos	Días de edad	0 ppm Pb	500 ppm Pb	1000 ppm Pb
Raíz	40 días	1,16	4,54	7,48
	60 días	0,27	3,17	4,96
Tallo	40 días	0,99	1,29	3,31
	60 días	0,00	0,25	1,03
Hojas	40 días	0,39	1,25	2,42
	60 días	0,63	0,81	0,88

En la Tabla 2, se presentan los valores promedio de peso fresco (gramos), peso seco (gramos), longitud de tallo (centímetros), longitud de raíz (centímetros) y número de hojas evaluadas a los 40 y 60 días de edad, observándose entre ambas evaluaciones un incremento; con respecto, a los parámetros peso fresco, peso seco, longitud de tallo, longitud de raíz, los valores disminuyen en el tratamiento con 1000 ppm de plomo, y, en relación al número de hojas, los valores se mantienen en los tres tratamientos. La Tabla 3 corresponde al Análisis de Varianza de la concentración de plomo acumulado por *H. annuus* L. a los 60 días de edad, con nivel de significación de 0.05; se muestra una variación entre tratamientos y entre órganos. La Tabla 4 representa la prueba estadística de Tukey para establecer diferencia significativa entre tratamientos y órganos, respectivamente, de *H. annuus* L. a los 60 días de edad con nivel de significancia de 0.05; en la relación a los tratamientos se halló diferencia significativa entre los tratamientos con 0 y 1000 ppm de plomo; y a nivel de órganos se halló diferencia significativa en raíz con respecto a hoja y a tallo, en los tres tratamientos.

Tabla 2. Valores promedio de peso fresco (gramos), peso seco (gramos), longitud de tallo (centímetros), longitud de raíz (centímetros) y número de hojas en plantas de *H. annuus* L. a los 40 y 60 días de edad, en los tres tratamientos

PARAMETROS	Peso fresco		Peso seco		Longitud tallo		Longitud raíz		Número hojas	
Días de edad	40	60	40	60	40	60	40	60	40	60
0 ppm Pb	111.4	153.9	9.74	16.01	70.2	90.2	16.4	18	11	17
500 ppm Pb	106.7	147.57	10.2	16.07	62.1	95	17.7	18.7	11	16
1000 ppm Pb	114.1	144.87	11.26	14.4	67.6	85.3	16.7	16	11	15

Tabla 3. Análisis de Varianza de la concentración de plomo acumulado por *H. annuus* L. a los 60 días de edad, con nivel de significación $P_{EI} = 0.05$

Fuente Efectos Principales	SC	gl	CM	F	P
Tratamientos	17,4758	2	8,73789	7,20	**0,0039***
Organos	29,7949	2	14,8974	12,27	**0,0003***
ERROR	26,7062	22	1,21392		
TOTAL	73,9769	26			

* Significativo

Tabla 4. Prueba estadística de Tukey para establecer las diferencias significativas entre los tratamientos y órganos en relación al total de plomo acumulado en planta completa de *H. annuus* L. a los 60 días de edad, en los tres tratamientos; Con nivel de significación PEI = 0.05; T1=0 ppm Pb; T2=500 ppm Pb; T3=1000 ppm Pb; h: hoja, t: tallo, r: raíz

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey					
Tratamientos	diferencias	grupos homogéneos	órganos	diferencias	grupos homogéneos
T1 – T2	-1,10556	A	h – r	*-2,05111	a
T1 – T3	*-1,96556	AB	h – t	0,32000	a
T2 – T3	-0,86000	B	r – t	*2,37111	b

*Significativo

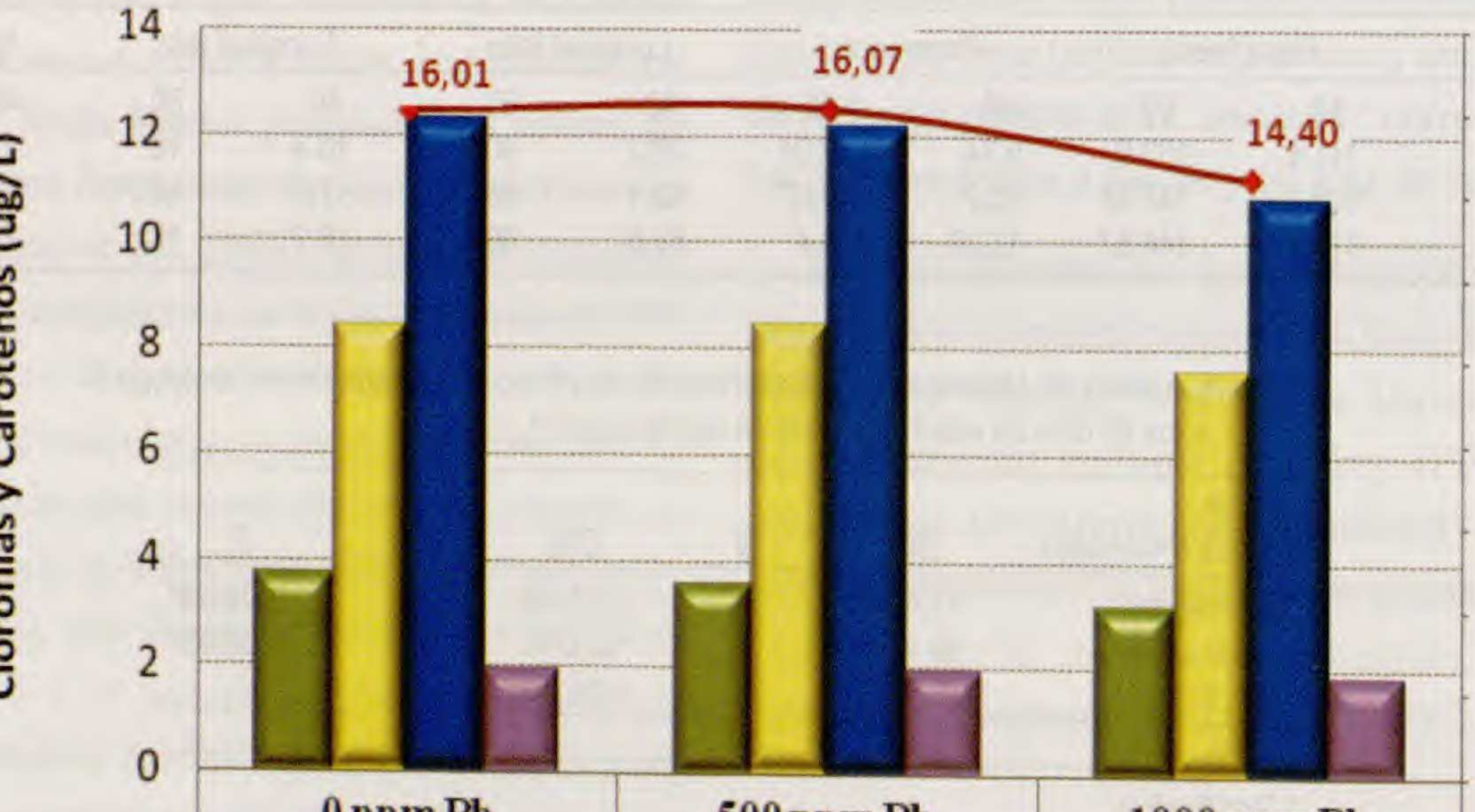
Discusión

A los 60 días de edad en el tratamiento con 1000 ppm de plomo, se observa que la raíz acumuló 4.96 ppm de Pb, seguido del tallo y hojas con 1.03 y 0.88 ppm de Pb respectivamente; además, en el tratamiento de 500 ppm de plomo, la raíz fue el órgano con mayor bioacumulación seguido del tallo y hojas con 3.17, 0.25 y 0.81 ppm de Pb respectivamente (Tabla 1); éstos resultados, concuerdan con reportes acerca del contenido de plomo en plantas de *H. annuus* L. que básicamente se restringe a las raíces (Simone *et. al.*, 2006).

Otras investigaciones, atribuyen la poca capacidad de traslocación del Pb a la baja movilidad de éste metal en comparación con otros metales como Cd o Zn; esta poca movilidad del metal a través de la planta es debido a que se mantiene adherido a la pared celular de las raíces y, en menor cantidad se transporta hacia las partes aéreas, explicando así, porque es común encontrarlo en las raíces (Greger, 2004; Nehnevajova, 2006).

Con respecto a la traslocación del Pb hacia los órganos aéreos, se enuncia, que algunas especies podrían poseer un sistema interno muy específico de trasladar metales de los tejidos radicales hacia la parte aérea (Brown, 1994), por ejemplo, *Brassica junquea* L. es una especie que acumula grandes niveles de Cd en sus órganos aéreos (Pence *et. al.*, 2000), así que la distribución de los iones metálicos varía considerablemente dependiendo de las especies vegetales y de los iones metálicos (Inouhe, 2005).

La Fig. 2. concentración de clorofilas y carotenos (ug/L) encontrados en hojas de *H. annuus* L. a los 60 días de edad, comparándolo con sus respectivos pesos secos, en los tres tratamientos las concentraciones de clorofilas y carotenos fueron disminuyendo conforme se incrementaban la concentración de plomo, esto por un proceso de inhibición de la síntesis de clorofila, dificultando la absorción de los elementos esenciales como Mg y Fe por parte de las plantas, además de disminución de la biomasa, (Sharma & Shanker, 2005); ésta biomasa se vió afectada en el tratamiento



	0 ppm Pb	500 ppm Pb	1000 ppm Pb
Clorofila A	3,66	3,49	3,08
Clorofila B	8,40	8,46	7,55
Clorofila Total	12,23	12,12	10,77
Carotenos	1,94	1,92	1,83
Peso Seco	16,01	16,07	14,40

Fig. 2. Concentración de clorofilas y carotenos (ug/L) encontrados en hojas de *H. annuus* L. a los 60 días de edad, comparándolo con sus respectivos pesos secos, en los tres tratamientos

con 1000 ppm de plomo (Figura 2); investigaciones recientes reportan que en plantas de *H. annuus* L., el peso fresco y seco disminuye si es sometida a excesivas concentraciones de metales pesados (Simon, 1998; García, 2008)

Las concentraciones de clorofila b son menos afectadas en relación a clorofila a y carotenos, a medida que aumentaban las concentraciones de plomo, en estudios con cadmio en *B. juncea* L., el contenido de clorofila b fue más afectada, pero simultáneamente incrementaba sus niveles de antocianinas (Azcón & Talon, 2001); en el presente estudio, el plomo produjo un efecto inverso.

Con respecto a la longitud de tallo, longitud de raíz, éstos disminuyen cuando aumenta la concentración de plomo a 1000 ppm de plomo (Tabla 2), debido al mecanismo de toxicidad primario de los metales pesados que cambia la función catalítica de las enzimas (Simone *et. al*., 2006), daña la membrana celular e inhibe el crecimiento (Barcelo *et. al*., 1986; Kastori *et. al*., 1992).

Conclusiones

• La especie *Helianthus annuus* L. "girasol" es una planta bioacumuladora de plomo en sus órganos vegetales.

• La raíz es el órgano vegetal de *H. annuus* L. "girasol" con mayor capacidad bioacumuladora de plomo.

• El crecimiento se ve afectado a concentraciones mayores a 1000 ppm de plomo.

Literatura citada

Agroenfoque. 2007. Revista para el Desarrollo Agroindustrial y Agroexportador. Cultivo de Girasol en el Perú. 257, 26-33 p.

Azcón-Bieto, J. & M. Talón. 2001. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Edit. Universidad de Barcelona. España. 522 p.

Bailón, S. 2006. Lead Bioaccumulation by three Tropical Plants Species. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Mayagüez Campus de Puerto Rico. 116p.

Barcelo, J.; C. Cabot & Ch. Poschenrieder. 1986. Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender). II. Effects of Cd on endogenous abscisic acid levels. J. Plant Physiol. 125, 27-34.

Brown, R.; A. Chaney & A. Baker. 1994. Phytorremediation potencial of *Thlaspi caerulescens* and Bladder campion for zinc and cadmium contaminated soil. J. Environ. Qual. 23:1151 – 1157.

Chaney, R. & A. Ryan. 1994. Risk Based Standards for Arsenic, Lead and Cadmium in Urban Soils. Dechema, Frankfurt. Journal Pollution: 5-6 p.

Davies F.; Jr. Jeffrey; D. Puryear; R. Newton; J. Egilla & G. Saraiva. 2001. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Physiology. 158, 777-786 p.

Environmental Protection Agency (EPA). 1996. Soil Screening Guidance. Technical Background Document. U.S. Gov. Print. Office, Washington, D. C. USEPA Rep. 540/R-95/128. 560 p.

Flores, Y. & A. Cortes. 2006. Bioabsorción de metáles pesados por *Salvinia natans* de los lixiviados de relleno sanitario Combeima de Ibagué. Revista Tumbaga: 89-100 p.

García, F. 2000. Monitorización de metales de interés medioambiental.Tesis de Doctorado en Medio Ambiente. San Salvador.

García, L. 2008. Capacidad de *Helianthus annuus* L. "girasol" para acumular plomo y su efecto en el crecimiento. Tesis para optar el título de Biólogo. Trujillo-Perú

Gastañadui, H. 2003. Evaluación de la Contaminación Ambiental por metales pesados en playas del distrito de Salaverry. Tesis de doctorado en Ciencias. Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional de Trujillo.Trujillo.Perú.

Greger, M. 2004. Metal availability, uptake, transport and accumulation in plants. In Heavy Metal Stress in Plants: From Biomolecules to Ecosystem, (Prasad, M.N.V., Ed.) Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. pp. 1-27 p.

Hong-Yun, P.; T. Sheng-Ke & X. Yang. 2005. Changes of root morphology and Pb uptake by two species of *Elsholtzia* under Pb toxicity. J Zhejiang University Science., 6:546-552 p.

Inouhe, M. 2005. Phytochelatins Braz. J. Plant Physiol. 17, 65- 78.

Kachenko, A. 2007. Heavy metal tolerante in common fern species. Australian. Journal of Botany. 2:63-73.

Kastori, R.; M. Petrovic & N. Petrovic. 1992. Effect of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relations in sunflower. J. Plant. 15, 2427-2439 p.

Leland, H.; E. Copenhauver & D. Wilfer. 1999. Heavy Metals and other trace elements. Journal Water and Pollut. 17: 1635-1656 p.

Lin, J.; W. Jiang & D. Liu. 2003.Accumulation of copper by roots, hypocotyls, cotyledons and leaves of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Bioresour. Technol., 86, 151-155.

Mohammad, M. & A. Nafees. 2006. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. Journal of Plant Physiology. ELSEVIER.

Nehnevajova, E. 2006. Effect of different concentrations of metals on growth and metal accumulation in roots and shoots of two sunflower cultivars. Pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Université Comenius Bratislava, Slovaquie. Et de nationalité slovaque

Pena, L.; M. Tomaro & S. Gallegos. 2006. Effect of different metals on protease activity in sunflower cotyledons. Electronic Journal of Biotechnology. Vol.9 No. 3. pp. 3-18.

Pence, N.; P.Larsen; S.D. Ebbs; D.Letham; M. Lasat & D.F. Garvin. 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thalspi caerulescens*. Proc Natl Acad Sci USA; 97: 4956–60.

Pineda, R. 2004. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomusintraradices* en la absorción y translocación de cinc y cobre en *Helianthus annuus* L. "girasol" crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. Tesis de doctorado en Biotecnología. Universidad de Colima-Tecomán. Colima, México.

Porta, A. 1994. Evaluación de la contaminación ambiental mediante indicadores biológicos de tipo molecular. Libro de resúmenes del XV Congreso Nacional de Agua, AGOSBA-COFAP en México. pp. 52.

Reigosa, M.; N. Pedrol & A. Sánchez. 2004. La Ecofisiología Vegetal una Ciencia de Síntesis. Edit. Thomson. España.1175 p.

Roane, T. & M. Perpper. 1996. Microbial remediation of metals and Bioremediation Principles and Applications. Journal Bioremediation: 312-340.

Rodríguez, F. & J. Rodríguez-Absi. 2006. Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de Interpretación. Ed. Trilla. México. 196 p.

Salgado, L. 2007. Vinaza como medio de cultivo alternativo en el crecimiento y producción de pigmentos de *Arthrospira jenneri* (Hassall) Stizenberg "spirulina" Tesis para optar el título de Biólogo. Trujillo-Perú

Shahandeh, H. & L. Hossner 2000. Plant screening for chromium phytoremediation. International Journal Phytoremediation. 2: 269-286

Sharma, P. & R. Shanker. 2005. Lead toxicity in plants. Braz. J. Plant. Physiol. 17:35-52.

Simon, L. 1998. Cadmium accumulation and distribution in sunflower plant. J. Plant Nutr. 21(2), 341-352.

Simone, J.; P. Lupino; R. Antunes & M. Zezzi. 2006 Metal Contamination Effects on Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Growth and Protein Expression in Leaves During Development. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol.1.No 54.:8623-8630.

Temmerman, L., M. Hoening & P. Scokart. 1984. Determination of normal levels and upper limit values of trace elements in soils. Bodenk. 147: 687-694.